添加茶の化学成分による判別法

農林水産省 野菜・茶業試験場*

後藤 哲久・堀江 秀樹・向井 俊博

(平成4年9月3日受理)

Discrimination of Amino Acid-Added Green Tea by Chemical Analysis

Tetsuhisa GOTO, Hideki HORIE, Toshihiro MUKAI

National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea

Various tea samples were collected from various places in Japan and were analyzed their Na^+ , NH_4^+ and amino acids composition. Sodium and ammonium were analyzed by ion meter and amino acids were analyzed by high-performance liquid chromatography. The level of sodium and ammonium in usual sound tea infusions were less than 10 mg/l and 5 mg/l respectively, however in some tea infusion more than dozens mg/l of sodium and nearly 10 mg/l ammonium were detected. From the most of tea extracts with high sodium and/or ammonium contents, unusually high level of glutamic acid and/or unnatural glutamic acid/theanine ratio were observed. These teas which gave unnatural results in chemical analysis were also judged as glutamate added tea by human sensory method.

1 緒 言

一般に緑茶(煎茶)においては、春の柔らかい新芽を用いて作られたものが良質なものとされている。これを成分的にみると、上級茶では全窒素含量が下級茶と比較して高いこと¹⁾、茶葉の熟度とその成分中の全窒素量に負の相関がみられること²⁾、茶の価格と全窒素量に正の相関がみられること³⁾等の報告にみられるように、全窒素量と茶の品質には密接な関係があるとされている。しかし、緑茶の風味には非常に多くの成分が関与しており、個々の化学成分と風味の関係はまだ詳細には判明していない^{4,5)}。こうした中で、茶葉中のアミノ酸、特にテアニンとグルタミン酸が茶の呈味と強く関係することが示されている⁵⁾。テアニンは茶に特有のアミノ酸で茶のうま味の中心をなす物質とされ、上級茶においてその含量が多いことが既に示されている⁶⁾。また、テアニンは一番茶、二番茶、三番茶と時期が進むに従って急激に低下することも示されている⁷⁾。一方、グルタミン酸は

食品一般のうま味の中心成分の一つとされており、食品加工、調理に広く用いられている。緑茶においてもこのグルタミン酸を添加することが、山陰から北陸地方にかけてかなり行われており、比較的安価でかつ濃厚な味であることを好まれ一定の市場を持っている。しかしながら、一部においてこの添加を適正に表示していないとみられる商品があり、茶本来の風味とは別のものであり、その科学的な判別法の確立が望まれている。

本報では、グルタミン酸ナトリウムを添加した茶を、無添加の茶と理化学分析により判別する方法について検討した結果を述べる。

2 実 験 方 法

2.1 試料及び試薬

試料は、1991年の国際茶研究シンポジウム(ISTS92)に際して各地の茶関係研究機関等から提供された茶、当試験場において1992年に生産された茶、及び1992年1月から2月にかけて、関西及び中国地方の販売店の店頭で購入したもの(100g当たり380-

* 〒428 静岡県榛原郡金谷町金谷2769

900 円) を用いた。

アミノ酸、全窒素の分析に供した試料は、試料茶 10~20 g をサイクロンサンプルミル (1 mm mesh 付き, Udy 社, 米国) を用いて粉碎したものを、 Na^+ および NH_4^+ の測定には試料茶をそのまま用いた。実験に用いた試薬は、文中に特記したものを除いて市販特級品をそのまま、水は水道水を一度蒸留したものをを用いた。またイオンクロマトグラフィー、個別アミノ酸分析用の高速液体クロマトグラフィーに用いた移動相は、調製後または調製途中で $0.45 \mu\text{m}$ のフィルターを持って濾過した。

2. 2 全窒素の定量

池ヶ谷ら⁸⁾ のセミマイクロケルダール法に準拠する方法で茶葉中の全窒素量を測定した。水蒸気蒸留の捕集液としては市販の 1/20N 硫酸を、滴定には同じく市販の 1/20N 水酸化ナトリウム水溶液を用いた。

2. 3 遊離アミノ酸の定量

ニンヒドリン呈色法⁸⁾ により行った。発色後の吸光度の測定には、日立 150-20 型分光光度計 (570 nm で使用) と、1 cm 角のガラスセルを用いた。

2. 4 アンモニウムの定量

茶葉のアンモニウムは先に後藤ら⁹⁾ が報告したイオンメーターによる方法によった。また、必要に応じてイオンクロマトグラムも併用した⁹⁾。

2. 5 ナトリウムイオンの定量

Na^+ はイオンクロマトグラムと、イオンメーターにより定量した。イオンクロマトグラムによる方法は NH_4^+ の定量法と同じ方法を用いた。イオンメーターによる方法は、茶浸出液が K^+ を多く含むため、 K^+ に対して Na^+ の選択性の高いガラス膜型電極 (Ross 84-11, オリオン社, 米国) を用いた。装置、測定条件は以下の通りである

イオンメーター : IOL-30 (電気化学計器, 東京)

Na^+ イオン電極 : Ross 84-11 (ケーブルを IOL-30 用に変更したもの)

比較電極 : DKK4083 (ダブルジャンクション, スリプ型, 外筒内部液は 0.5M KCl, 電気化学計器, 東京)

イオンメーターは予め 1000 ppm の塩化ナトリウム溶液を希釈したものをを用いて校正した。

試料茶 5 g を 100 ml 容の三角フラスコに取り、蒸留水 100 ml を加え、時々攪拌しながら 10 分間抽出し、ワットマン No. 113 濾紙 (ワットマン, 英国) で濾過した濾液を抽出液とした。抽出液 50 ml にイオン強度調整液 (4 M NH_4Cl , 4 M NH_4OH の水溶液) 5 ml を加え、攪拌しながら直ちに電極を浸し、指示が安定するのを待って Na^+ 量を読みとった。

2. 6 個別アミノ酸の定量

遊離アミノ酸はオルトフタルアルデヒド (OPA) で誘導体化した後、ODS カラムで分離し、蛍光検出器で検出する方法で分析した⁸⁾。分析に用いた装置、条件は以下の通りである。

ポンプ : TRI ROTER VI 型低圧グラジエントシステム (日本分光, 東京)

カラム恒温槽 : TU-300 (日本分光, 東京)

蛍光検出器 : FP-210 (日本分光, 東京)

インテグレーター : Chromatocorder 11 (システムインスツルメンツ, 東京)

インジェクター : Rheodyne 7125 (レオダイン社, 米国)

カラム : Capcell Pak C_{18} (4.6 mm $\times$ 25 cm, 資生堂, 東京)

移動相 : A 液 ; 10% エタノール含有クエン酸-クエン酸カリウム緩衝液 (2 mM, pH6.0)
B 液 ; 50% エタノール含有クエン酸-クエン

表1 無処理・無添加の茶の分析結果

	T-N* ¹ (%)	FAA* ² (%)	Na ⁺ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	Asp* ³ (mg/g)	Glu* ⁴ (mg/g)	Ser* ⁵ (mg/g)	Gln* ⁶ (mg/g)	Arg* ⁷ (mg/g)	Theanine (mg/g)	Glu/Theanine (%)
玉露1	6.39	6.16	5.48	2.88	6.16	3.93	1.04	2.83	9.46	39.8	9.88
玉露2	6.55	6.02	4.69	2.53	4.86	3.55	1.03	3.21	10.91	35.2	10.06
てん茶	6.25	4.60	8.20	2.04	5.66	2.41	0.85	1.13	6.50	25.2	9.56
かぶせ茶	5.41	2.39	4.69	4.01	2.79	2.10	0.92	0.85	1.59	11.1	18.98
深蒸し煎茶	5.64	3.38	7.62	3.21	1.65	2.16	0.86	2.30	4.36	22.9	9.44
煎茶1	6.09	3.64	8.12	2.42	2.20	2.62	0.77	2.61	3.11	27.5	9.53
煎茶2	5.63	3.74	5.17	3.73	1.27	2.01	0.68	2.17	4.38	24.8	8.10
煎茶3	5.20	2.08	5.99	1.57	1.70	2.31	0.91	0.96	1.78	12.8	17.99
煎茶4	5.41	2.85	5.19	2.01	2.43	2.64	1.10	1.71	2.51	16.8	15.68
煎茶5	5.63	3.42	5.79	4.27	2.59	2.72	0.89	1.85	4.73	22.6	12.06
煎茶6	5.28	2.65	5.26	2.11	1.12	1.72	0.69	1.52	2.33	16.2	10.63
蒸製玉緑茶	5.99	3.97	6.15	3.24	2.79	3.04	0.79	2.30	3.07	28.9	10.52
釜炒り茶1	5.11	1.67	5.19	2.22	1.27	1.75	0.51	0.85	1.11	13.0	13.46
釜炒り茶2	5.83	2.33	5.20	4.92	2.08	2.42	0.52	1.55	2.21	18.6	13.01
番茶	3.07	0.94	6.92	2.38	0.60	0.66	0.28	0.25	1.15	3.90	16.82
92年一番茶茎	3.98	4.12	5.69	1.62	2.13	3.15	0.94	3.90	3.31	34.1	9.24
92年二番茶1	4.20	1.11	6.59	2.00	1.04	1.34	0.48	0.50	0.42	8.44	15.88
92年二番茶2	3.91	1.03	4.46	1.64	0.96	1.46	0.49	0.45	0.42	7.10	20.56
92年二番茶3	4.31	1.21	4.49	1.54	2.20	1.87	0.92	0.23	0.59	5.50	34.00

*1: 全窒素

*2: 遊離アミノ酸

*3: アスパラギン酸

*4: グルタミン酸

*5: セリン

*6: グルタミン

*7: アルギニン

酸カリウム緩衝液 (2
mM, pH6.0)

流量 : 1.0 ml/min
グラジエント : A液100%からB液100%へ55分間で直線的に変更した後, B液で7分間保持, その後初期条件 (A液100%) に戻す。

試料の誘導体化は, 抽出液⁸⁾ 100 μ l に水 200 μ l を加え混合した後, OPA 溶液 (OPA 72 mg と2-メルカプトエタノール130 μ l を10 ml の0.1M ホウ酸緩衝液 pH10 に溶解したもの) 100 μ l を加えることにより行った。混合した液は直ちに装置に導入し分析した。

3 結果と考察

無添加の茶の分析結果を表1に, 店頭から購入した茶の分析結果を表2に示した。また今回分析した茶の中のいくつかの, 個別アミ

ノ酸分析のクロマトグラムを図1に示した。イオンメーターによる Na⁺ と NH₄⁺ の測定結果と, イオンクロマトグラフィーによる結果はほぼ一致し, イオン電極の特性により問題となる, 植物体中に多量に含まれる K⁺ による Na⁺ 測定への妨害は, 今回用いた電極と測定条件では障害にならないことが確認された。

グルタミン酸ナトリウムの添加, アンモニウムによる発色等を行っていない茶においては, Na⁺ の測定値はすべて 10 mg/l 以下であり, NH₄⁺ の値も 5 mg/l 以下であった。また個別アミノ酸の分析結果でも, グルタミン酸量が 4 mg/g を越える試料はなく, テアニン量に対するグルタミン酸量でも, 二番茶の特にアミノ酸含有量の少ない物を除いて 20% 以下で, 10~15% 程度のものが多かった (表1, 図1(A), (B))。

店頭で購入した茶の結果をみると, Na⁺ が数 10 mg/l 以上, NH₄⁺ が 10 mg/l に近

図1 茶の個別アミノ酸分析のクロマトグラム

(A) : 玉露

(B) : 普通煎茶

(C) : 店頭試料 4

(D) : 店頭試料 7

D : アスパラギン酸

S : セリン

R : アルギニン

E : グルタミン酸

Q : グルタミン

TA : テアニン

いものが多数みられ、 Na^+ を含む物質の添加、あるいは NH_4^+ による処理を受けた可能性を示すものがあった(表2)。また、 NH_4^+ に関しては、茶が変質すると測定値が高くなる傾向があり、今回試験に用いた茶の中には、官能審査で変質が指摘されたものもあることから、商品に添加された抹茶等が変質した結果高く測定されたことも考えられる。

これらのものの個別アミノ酸の分析結果を見ると、グルタミン酸量が 5 mg/g を越えるもの、テアニンに対するグルタミン酸の量が40%を越えるものがみられ(表2, 図1(C), (D)), グルタミン酸の添加が推察された。また、これらの茶を熟練した官能検査員により、

不自然なグルタミン酸様のうま味の検出を行ったところ、試料番号の1, 2, 3, 4, 5, 10, 11に明らかに、6, 7, 15にその疑いがあると判定された。さらに茶の官能審査の経験の無い5名に同様の判定を依頼したところ、1, 3, 5, 10の試料では全員がグルタミン酸様の味を指摘した。これらの茶の中、3, 4, 5, 7, 11, 15は包装にアミノ酸の添加が明記されていたが、2, 10では固形茶とのみ表示されており、さらに、1は煎茶、抹茶入りという表示のみであった。12番の茶には固形茶の表示はあるものの分析結果、官能審査の結果の両者からアミノ酸の添加等の形跡は認められなかった。また、8番の茶は、包装にアミノ酸添加の表示があり、分析値からも添加が推定され

表2 関西、中国地方で店頭購入した茶の分析結果

添加物使用の表示	T-N* ¹ (%)	FAA* ² (%)	Na ⁺ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	Asp* ³ (mg/g)	Glu* ⁴ (mg/g)	Ser* ⁵ (mg/g)	Gln* ⁶ (mg/g)	Arg* ⁷ (mg/g)	Theanine (mg/g)	Glu/Theanine (%)
試料1 抹茶入* ⁸	4.25	3.70	129	4.97	1.89	14.42	0.56	0.55	0.79	8.82	163.5
試料2 固形茶* ⁹	4.41	3.65	96.6	11.8	1.64	12.27	0.69	0.52	2.16	12.96	94.68
試料3 アミノ酸* ¹⁰	4.02	5.75	111	5.50	1.62	28.44	1.01	1.47	1.04	18.97	149.9
試料4 アミノ酸	4.37	4.89	43.9	5.77	2.64	7.91	0.98	3.27	2.39	28.69	27.57
試料5 アミノ酸	3.94	4.96	86.8	8.34	2.46	13.07	0.92	2.04	2.37	23.10	56.58
試料6 抹茶入	4.05	2.45	15.1	8.84	2.06	4.25	0.62	0.72	1.28	12.44	34.16
試料7 アミノ酸	4.10	2.89	65.9	9.64	1.74	11.22	0.47	0.33	0.96	10.04	111.8
試料8 アミノ酸	4.63	3.64	25.5	8.30	1.82	4.23	1.02	1.12	2.80	19.54	21.65
試料9 表示なし	4.97	2.55	6.31	2.76	1.87	2.21	0.90	0.93	1.43	13.69	16.14
試料10 固形茶	4.89	3.92	106	9.87	1.50	11.82	0.50	0.42	2.04	10.88	108.6
試料11 アミノ酸	4.95	3.96	32.6	3.54	1.81	4.87	0.75	1.00	4.98	20.23	24.07
試料12 固形茶	5.09	3.34	4.38	4.47	2.91	2.65	1.03	1.32	2.71	18.60	14.25
試料13 一切不使用	4.19	1.12	6.66	8.56	1.60	1.46	0.47	0.33	0.41	5.08	28.74
試料14 100%宇治茶	4.14	1.92	19.2	7.20	1.19	2.88	0.46	0.29	0.45	6.70	42.99
試料15 アミノ酸	4.86	2.27	32.9	2.75	2.32	5.66	0.82	0.68	1.54	11.68	48.46

*1: 全窒素

*2: 遊離アミノ酸

*3: アスパラギン酸

*4: グルタミン酸

*5: セリン

*6: グルタミン

*7: アルギニン

*8: 抹茶を添加してあることを表示し、固形茶、アミノ酸等の添加の表示がないもの。

*9: 固形茶を添加していることを表示し、固形茶の成分に関して表示のないもの。

*10: アミノ酸またはアミノ酸を含む固形茶を添加していることを表示しているもの。

たが、官能審査では指摘されなかった。

今回の検討結果を総合してみると、イオンメーターによりNa⁺を測定することにより、グルタミン酸ナトリウム等のナトリウムを含むものを茶に添加した場合、それを検出することはほぼ可能であることが示された。これにNH₄⁺を測定することにより検出可能な処理⁹⁾と併せて、イオンメーターにより簡易に、茶葉が添加、発色等の処理を受けたか否かの判別できることが示された。またさらに、個別アミノ酸を分析することにより、グルタミン酸含量、グルタミン酸とテアニンの含量比から、より明確にグルタミン酸の添加を推定できることも明らかにされた。

4 摘 要

各地の無処理、無添加の茶と市販のアミノ酸を添加した可能性のある茶のNa⁺とNH₄⁺をイオンメーターで、個別アミノ酸を高速液体クロマトグラムで分析した。無処理・無添加のものでは、Na⁺の溶出量は10 mg/l

以下、NH₄⁺の溶出量も5 mg/l以下であったが、添加を受けているものの中には、Na⁺が数10 mg/l、NH₄⁺が10 mg/l近くになっているものがあった。個別アミノ酸分析の結果、グルタミン酸を添加されていると見られるものでは、グルタミン酸含量が極端に高かったり、グルタミン酸とテアニンの比が不自然であったりすることが確認された。分析値が不自然なこれらの茶は、官能審査の結果グルタミン酸添加茶と判定されたものと良く一致した。

本研究を遂行するにあたり、官能審査をしていただいた、当試験場製茶研究室長深津修一氏他の関係各位、研究の全般に渡り、試料の調製、化学分析等にその労を厭わなかった天野いねさんに深謝する。

5 引 用 文 献

- 1) 中川致之・中島花江(1972)：煎茶審査液の化学成分組成，茶研報，37，79-83

添加茶の化学成分による判別法

- 2) 高柳博次・阿南豊正・池ヶ谷賢次郎・中川致之(1985)：茶芽の熟度と成分変動，茶研報，61，20-25
- 3) 太田義十(1941)：協定価格標準茶並市販小売製茶の全窒素量に関する研究報告，埼玉県茶業研究所茶研要報，20，1-24
- 4) 茶のいれかた研究会(1973)：茶のいれかたの検討，茶研報，40，58-66
- 5) 中川致之(1973)：緑茶の味と化学成分，茶研報，40，1-9
- 6) 前田 茂・中川致之(1977)：各種緑茶の総合的理化学分析，茶研報，45，85-92
- 7) 前田清一・佐々木裕・鎌田光雄・賀陽武子・赤堀 博(1962)：静岡茶のテアニンおよびグルタミン酸含有量について，茶研報，19，100-103
- 8) 池ヶ谷賢次郎・高柳博次・阿南豊正(1990)：茶の分析法，茶研報，71，43-74
- 9) 後藤哲久・堀江秀樹・向井俊博・谷口正樹(1991)：イオンメーターによる茶葉中のアンモニウムの簡易分析法，茶研報，74，11-13